

Université Pierre et Marie Curie – Sorbonne Universités

**MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME UNIVERITAIRE
"ASSURANCE QUALITE AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE"**

**VERIFICATION DE METHODE DU DOSAGE SYPHILIS SUR LA
PLATEFORME COBAS C8000**

Asma JEBLAOUI

Année 2017

NOTE AU LECTEUR

Les mémoires des stagiaires du Diplôme Universitaire "Assurance Qualité au laboratoire de biologie médicale" sont des travaux réalisés pendant l'année de formation.

Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs.

Les travaux ne peuvent faire l'objet d'une publication en tout, ou partie, sans l'accord de l'auteur et du responsable du DU concerné.



Dr JEBLAOUI Asma

Praticien Attaché

Laboratoire de Bactériologie -Hygiène

Hôpitaux Universitaires Paris Sud, Site Le Kremlin Bicêtre

78 Rue du Général Leclerc, 94270 Le Kremlin-Bicêtre

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier profondément Dr Nicolas Fortineau qui m'a confié la tâche de mise en place de l'automatisation et d'accréditation de la sérologie Syphilis.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire de Bactériologie, en particulier le Dr Cuzon, pour leur aide dans la réalisation de ce travail.

Un remerciement particulier au Dr Françoise Cynober pour ses précieux conseils et sa disponibilité ainsi qu'à toute l'équipe de Biochimie.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABBREVIATIONS.....	6
1. Introduction.....	7
1.1 Présentation du Groupe Hospitalier HUPS.....	7
1.2 Le Laboratoire de Biologie Médicale au sein du Groupe Hospitalier	7
1.3 L'Unité de Bactériologie -Hygiène.....	7
1.4 Démarche Qualité du LBM et situation actuelle.....	8
2. Choix du sujet, objectif du travail et méthodologie	9
2.1 Rappel sur la Syphilis.....	9
2.2 Dépistage de la Syphilis en France.....	10
2.3 Choix du sujet et objectif du travail.....	10
2.4 Méthodologie.....	11
2.5 Planning.....	12
3. Vérification sur site des performances de la méthode.....	13
3.1. Description du Sous -processus.....	13
3.2. Description de la méthode.....	14
3.3 Mise en Œuvre.....	15
3.4 Maitrise des risques.....	15
3.5 Identification des performances à évaluer.....	18
3.5.1 Vérification Bibliographique.....	18
3.5.1.1 Fidélité.....	19
3.5.1.2 Intervalle de mesure.....	19
3.5.1.3 Spécificité.....	19
3.5.1.4 Sensibilité.....	19
3.5.1.5 Stabilité des réactifs.....	19
3.5.1.6 Interférences.....	20
3.5.2. Evaluation des performances et interprétation.....	20
3.5.2.1 Répétabilité.....	20
3.5.2.2 Fidélité intermédiaire.....	20
3.5.2.3. Justesse.....	21
3.5.2.4. Exactitude.....	21
3.5.2.5 Contamination inter-échantillon.....	22
3.5.2.6 Comparaison de méthode.....	22
4. Conclusion et décision sur la validation opérationnelle de la technique.....	24
BIBLIOGRAPHIE.....	25
ANNEXES.....	26
RESUME.....	36

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac : Anticorps

Ag : Antigènes

AMDEC : Analyse des modes de défaillance, de leurs effets et de leur criticité

CMIA : Chimiluminescence

CV : Coefficient de Variation

CIQ : contrôle interne de la qualité

CIQE : contrôle interne de la qualité externalisé

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute

EEQ : Evaluation Externe de la Qualité

ELISA : Enzyme linked Immunosorbent Assay

FTA-Abs : Fluorescent Treponemal Antibody Absorption test

HAS : Haute Autorité de Santé

HUPS : Hôpitaux Universitaires Paris Sud

NABM : Nomenclature des Actes de Biologie Médicale

RDD : Revue de direction

SMQ : Système de Management de la Qualité

TNT : Test non Tréponémique

TP : Treponema pallidum

TPHA : Treponema pallidum Hemagglutination Assay

TT : Test Tréponémique

UNCAM : Union Nationale des Caisses d'Assurance Maladie

VRDL : Veneral Disease Research Laboratory

1. Introduction

1.1 Présentation du Groupe Hospitalier HUPS

Le Groupe Hospitalier (GH) HUPS constitue l'un des 12 groupes hospitaliers de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris.

Il a été constitué au 1er janvier 2011 par la fusion des hôpitaux Antoine-Béclère, Bicêtre et Paul-Brousse. Ces trois établissements sont situés sur deux territoires de santé : 92 et 94 et couvrent un bassin de vie de plus de cinq millions d'habitants. Le groupe hospitalier prend en charge l'adulte et l'enfant et dispose de plus de 2000 lits d'hospitalisation et environ 200 places d'hospitalisation ambulatoire. Le GH est caractérisé par des activités cliniques aiguës et lourdes, développées sur chaque site, mais aussi par des spécificités d'excellence reconnues et labellisées.

Le groupe hospitalier est constitué de 9 pôles hospitalo-universitaires intersites dont le pôle Biologie-Pathologie-Pharmacie Santé Publique (BPPSP) qui intègre le Laboratoire de Biologie Médicale.

1.2 Le Laboratoire de Biologie Médicale au sein du Groupe Hospitalier

Le pôle BPPSP comprend le Laboratoire de Biologie Médicale (LBM), les services de Pathologie, les services de Pharmacie et les services de Santé Publique - Epidémiologie. Le LBM est constitué d'un ensemble de 18 structures réparties sur 3 sites hospitaliers (Antoine-Béclère, Bicêtre, Paul-Brousse), dirigées par des biologistes médicaux responsables de structure interne. Il répond aux besoins de la population locale. Avec les autres établissements hospitalo-universitaires de l'AP-HP, il concourt à délivrer des soins hautement spécialisés et contribue à assurer l'Enseignement et la Recherche.

1.3 L'Unité de Bactériologie -Hygiène

Elle contribue au diagnostic des agents responsables de maladies infectieuses bactériennes et participe à la prévention et à la lutte contre les infections nosocomiales et au conseil nécessaire à la prise en charge des pathologies concernées pour l'aspect hospitalier et développe des activités d'enseignement et de recherche.

L'unité de Bactériologie-Hygiène comporte plusieurs secteurs :

- les Services généraux : secrétariat, accueil, logistique et préparation
- la Bactériologie clinique (Secteur J0, 4 laboratoires poursuivant la prise en charge des prélèvementsensemencés (examen des cultures, rendu des antibiogrammes) : répartition en

fonction des services prescripteurs, un secteur de sérologie bactérienne, et un secteur de Biologie Moléculaire)

- l'Hygiène hospitalière
- le Centre National de Référence de la résistance aux antibiotiques
- la Recherche

1.4 Démarche Qualité du LBM et situation actuelle :

La démarche qualité a été initiée depuis de nombreuses années dans l'ensemble des 3 sites du GH (accréditation COFRAC du laboratoire d'hématologie de l'hôpital Paul Brousse en 2000, certification ISO 9001 du laboratoire de Biologie de la reproduction de l'hôpital Antoine Béclère...).

Le laboratoire a défini et mis en place un système de management de la qualité en adéquation avec les exigences de la norme NF EN ISO 15189, du « recueil d'exigences pour l'accréditation SH REF 02 » et dans le respect de l'ordonnance n°2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale modifiée par la loi n°2013-442 du 30 mai 2013, avec pour objectif, l'accréditation totale du laboratoire du groupe hospitalier en 2020. (1,2,3)

Le laboratoire a mis en place une organisation basée sur :

- Le regroupement des activités par processus (Management, Réalisation, Support). Ainsi, le LBM déploie et organise son Système de Management de la Qualité selon une approche processus (4.2.1 de la norme NF EN ISO 15189 et ISO 9001). (Annexe 1)
- La maîtrise des compétences et des techniques mises en œuvre.

Actuellement 68% du volume d'activité du LBM est accrédité, dont 3.3% d'examens de l'unité de Bactériologie hygiène.

Pour l'année 2017 l'unité de bactériologie- hygiène a choisi l'extension de la portée d'accréditation aux lignes IB1 et BA8. Le tableau ci-dessous résume les analyses concernées.

Ligne de portée	Examens	Date	Responsable
IB1: Recherche, identification et /ou détermination de la concentration d'anticorps et /ou d'antigènes spécifiques contre des agents infectieux	Détection qualitative des anticorps anti-tréponémiques par électrochimiluminescence (ECLIA) (technique automatisée sur Cobas)	Septembre 2016 (pour évaluation en 2017)	A. JEBLAOUI G. CUZON
	Détection quantitative des anticorps anti-tréponémiques par hémagglutination passive (technique manuelle)		
	Détection quantitative des anticorps anti-cardiolipides par agglutination (technique manuelle)		

Ligne de portée	Examens	Date	Responsable
BA8: Recherche et identification de bactéries spécifiques Méthode de type qualitatif et/ou quantitatif Biologie moléculaire	PCR <i>C. trachomatis</i> sur sécrétions vaginales	Septembre 2016 (pour évaluation en 2017)	G. CUZON
	PCR <i>C. trachomatis</i> sur urines		
	PCR <i>C. trachomatis</i> sur prélèvement urétral		
	PCR <i>C. trachomatis</i> sur prélèvement endocervical		
	PCR <i>N. gonorrhoeae</i> sur sécrétions vaginales		
	PCR <i>N. gonorrhoeae</i> sur urines		
	PCR <i>N. gonorrhoeae</i> sur prélèvement urétral		
	PCR <i>N. gonorrhoeae</i> sur prélèvement endocervical		
	PCR <i>C. difficile</i> : recherche des gènes des toxines B/binaire		

13

Tableau 1 : ligne de portée et analyses concernées pour la demande d'extension de l'accréditation de la structure de bactériologie (RDD LBM HUPS 2017)

2. Choix du sujet, objectif du travail et méthodologie

2.1 Rappel sur la Syphilis

La syphilis est une infection sexuellement transmissible (IST) chronique due à un spirochète, *Treponema Pallidum*, bactérie spiralée et non cultivable, elle peut également être transmise par la mère au fœtus pendant la grossesse ou l'accouchement. C'est une maladie strictement humaine dont la déclaration n'est plus obligatoire depuis l'ordonnance n°2000-548 du 15 juin 2000.

La syphilis est de retour depuis le début des années 2000, cette recrudescence observée dans la communauté homosexuelle n'est pas due à l'apparition d'une résistance aux antibiotiques, bactérie toujours sensible à la Pénicilline G, mais à la reprise des comportements sexuels à risque.

La Classification européenne (European Center For Disease Prevention and Control) définit 2 stades ayant des traitements différents : la syphilis précoce de moins d'un an d'évolution et la syphilis tardive de plus d'un an ou impossible à dater.

L'évolution naturelle de la maladie sans traitement est résumée dans l'annexe 2.

L'Objectif du laboratoire est d'aider le clinicien pour établir le dépistage en l'absence de signes cliniques, le diagnostic en présence de signes cliniques, et faire le suivi des patients traités.

Le tréponème ne se cultivant pas in vitro, le diagnostic biologique de syphilis ne peut se faire que par la mise en évidence du tréponème lui-même ou indirectement, par la mise en évidence de la réponse spécifique anticorps.

En l'absence de signe clinique, le diagnostic repose essentiellement sur les résultats de la sérologie, confrontés aux données de l'interrogatoire (notion de contagé, de signes cliniques apparents, de traitement antérieur, de résultats sérologiques antérieurs, de fausses couches spontanées, etc.).

Deux types de tests permettent le dépistage et le diagnostic sérologique de la syphilis : des tests tréponémiques (TT) et des tests non tréponémiques (TNT). Le suivi thérapeutique est basé sur le TNT.

2.2 Dépistage de la Syphilis en France

Selon la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) actuelle, le dépistage et le diagnostic de la syphilis repose sur la réalisation concomitante d'un test tréponémique (TT) et d'un test non tréponémique (TNT). En confirmation, si au moins un des deux tests de dépistage est positif, un titrage doit être pratiqué sur les deux tests. D'autres tests de confirmation peuvent être prévus (annexe 3).

L'UNCAM a proposé une modification de l'algorithme de détection de la syphilis par des examens sérologiques avec pour principale modification le remplacement comme examen de première étape, des deux examens initiaux à réaliser concomitamment, par un seul TT réalisé par une technique immuno-enzymatique automatisable ciblant les Immunoglobulines totales : techniques ELISA ou apparentées comme l'EIA ou la CMIA. Cette proposition de modification de la NABM est issue d'une proposition du CNR Syphilis. L'intérêt de l'algorithme inversé proposé est de placer comme premier test de dépistage le test le plus sensible. Les techniques ELISA ou apparentées sont décrites comme très sensibles, elles présentent en plus des avantages pratiques de réalisation (du fait de l'automatisation). Le TNT, qui ne peut être fait que manuellement, est placé comme examen de confirmation, réservé aux rares cas où le TT est positif. (9,10) (Annexe 4).

2.3 Choix du sujet et objectif du travail

Pour répondre à la feuille de route de la HAS 2015 et du CNR de la syphilis, nous avons décidé à l'hôpital Bicêtre de changer la stratégie de dépistage sérologique de la syphilis, qui comportait jusqu'à mai 2017 la réalisation concomitante d'un un TT et un TNT sur chaque demande de sérologie syphilis par des techniques manuelles (Kits TPHA et VDRL (Biorad)).

Depuis juin 2017, pour toute demande de sérologie Syphilis : on réalise en premier un TT automatisé avec recherche par ECLIA des anticorps totaux anti-tréponémiques (Kit Syphilis (Roche), sur la plateforme Cobas C8000 au laboratoire de biochimie. En cas de positivité, on réalise une confirmation et une quantification des anticorps par les deux techniques manuelles TPHA (TT de confirmation) et VDRL (TNT), au laboratoire de bactériologie. (Annexe 5)

Ce changement a permis la mise en place de l'automatisation du TT de dépistage avec tous les avantages pratiques liés : un gain de temps technique et une nouvelle organisation de la paillasse sérologie qui a pu être couplée à une autre activité, une plus grande facilité de mise en place de la procédure d'assurance qualité, la lecture objective des résultats et la minimisation du risque d'erreur de manipulation et de transcription des résultats. Ceci a permis également d'élargir la mutualisation de la plateforme multidisciplinaire Cobas C8000, installé au laboratoire de Biochimie, à la sérologie bactérienne.

Notre travail a porté sur la validation des trois analyses de la sérologie syphilis à accréditer (tableau 1), cependant dans ce mémoire nous présenteront uniquement la vérification de méthode du dosage syphilis sur la plateforme Cobas C8000.

L'objectif de ce travail est d'une part de s'assurer que la technique utilisée est conforme aux spécifications attendues et ainsi de garantir la qualité des résultats rendus, et d'autre part de réaliser le SH Form 43 qui sera soumis au Cofrac.

2.4 Méthodologie

Le projet a été organisé selon la roue de Deming (PDCA) :

- P : « Plan » pour la planification du travail
- D : « Do » pour la réalisation des actions décidées lors du plan
- C : « Check » pour l'évaluation des actions mises en place
- A : « Act » pour trouver les actions permettant d'améliorer le processus



Figure 1 : Schéma de l'organisation du projet d'automatisation et d'accréditation de la sérologie Syphilis

2.5 Planning

Février 2017

- ▶ Constitution du groupe de travail
- ▶ Réunion d'organisation avec l'équipe de Roche et les biologistes de Biochimie
- ▶ Etat des lieux des stocks de réactifs
- ▶ Début Paramétrage connexions informatiques
- ▶ Vérification/ Rédaction des procédures et des MO (certains multisite) et les répartir sur le groupe de travail (Tableau 2)
- ▶ Etablir un plan de manipulation

Mars –mai 2017

- ▶ Définir l'organisation finale (taches attribuées à chaque intervenant : technicien de biochimie, technicien de bactériologie, cadre de biochimie et de bactériologie, tâches quotidiennes, tâches hebdomadaires et les tâches mensuelles...)
- ▶ Paramétrage SIL (GLIMS), Paramétrage MPL et connexions informatiques
- ▶ Modification feuille de résultat
- ▶ Vérification transfert données informatiques

- ▶ Formation /habilitation PNM Biochimie à la sérologie bactérienne
- ▶ Formation /habilitation PNM Bactério à la chaîne Cobas C8000
- ▶ Formation PM à la chaîne Cobas C8000
- ▶ Finalisation des Vérification des performances
- ▶ Interprétation des résultats par rapport aux objectifs fixés
- ▶ Remplissage du SH FORM

Juin 2017

- ▶ Utilisation de la nouvelle méthode début juin 2017
- ▶ Suivi des performances et proposition d'ajustements si nécessaire

Mode opératoire/ procédure/ Fiches
Organisation générale du secteur sérologie (Multisite)
Procédure d'utilisation de GLIMS pour les sérologies
Sérodiagnostic de syphilis TPHA
Sérodiagnostic de syphilis VDRL
Procédure d'aide à la validation biologique de la sérologie bactérienne
Procédure gestion CQ Sérologie Syphilis
Limites interférences hémolyse ictère lactescence HIL C8000 (Multisite)
Contrôles qualité C8000 liste conservation (Multisite)
Calibrants C8000 liste conservation et conditions d'utilisation (Multisite)
Traçabilité des réactifs utilisés pour la sérologie Syphilis
Traçabilité CQI et CQIE utilisés pour la Sérologie Syphilis

Tableau 2 : Procédures/ Modes opératoires et Fiches révisés ou rédigés

3. Vérification sur site des performances de la méthode

3.1. Description du Sous -processus :

Il fait partie du processus complexe de la vérification de la méthode de la sérologie Syphilis qui comporte 6 sous processus. Le sous processus détection des anticorps anti-tréponémiques par la technique Syphilis TP sur Cobas C8000 fournit un résultat de type qualitatif extrapolé à partir de données quantitatives. Aucun changement dans la technique par rapport aux recommandations du fournisseur ne sera effectué. Il s'agira donc d'une vérification de méthode d'après les paragraphes 5.5.1.2 et 5.5.1.3 du SH REF 02. (4,6) (Annexe 6)

3.2. Description de la méthode

Syphilis TP (Cobas, Roche) est un test immunologique pour la détermination qualitative in vitro des anticorps totaux dirigés contre *Treponema Pallidum* (Ag TpN15, TpN17 et TpN47) dans le sérum et le plasma humains. Il est réalisé par électro chimiluminescence « ECLIA », s'utilise sur les systèmes d'immuno-analyse et Cobas. Le test a obtenu le marquage CE conformément à la Directive 98/79/CE. Les performances analytiques ont été établies pour l'usage diagnostique et pour le dépistage des dons de sang.

C'est une méthode sandwich à deux antigènes, le dosage se fait en trois étapes qui sont résumés dans la figure ci-dessous (Figure 2).

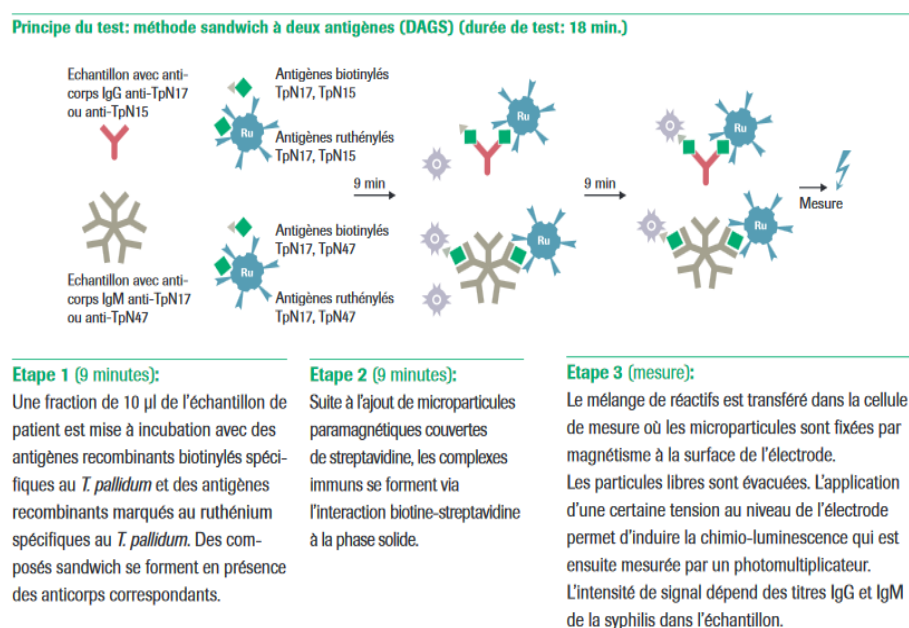


Figure 2 : Principe du dosage des AC totaux dirigés contre TP par la méthode ECLIA Roche

L'analyseur calcule automatiquement la valeur seuil à partir des mesures des Calibrateurs Syphilis. Le résultat pour un échantillon est présenté comme « réactif » ou « non réactif » ou sous la forme d'un rapport échantillon/seuil (rapport E/S).

Les échantillons dont le rapport E/S est < 1.00 sont non réactifs. Ils sont considérés comme négatifs pour les anticorps spécifiques de la syphilis. Les échantillons dont le rapport E/S est ≥ 1.00 sont considérés comme réactifs. (Annexe 5)

La validation de méthode s'est faite sur les deux modules e d'immuno-analyse de la plateforme Cobas C8000, les échantillons seront passés en routine tous les jours de manière aléatoire sur la ligne 1 ou 2 de la chaîne.

3.3 Mise en œuvre

Mise en œuvre sous processus 5 ET 6	
Opérateur(s) qualifié(s) et reconnu(s) compétent(s) ayant réalisé la vérification/validation de méthode	JEBLAOUI ASMA (Biologiste), BOYER OLIVIER (Technicien)
Procédure de validation/mode opératoire	Procédure transversale du LBM vérification/validation Méthode (PS-HUPS- ANA-QUAL-PG-001) SH GTA 04 SH GTA 14
Procédure de gestion de la portée flexible	Procédure Gestion de la portée d'accréditation (PS-HUPS-ANA-QUAL-PG-003)
Période d'étude	07-03-2016 - 12-05-2017
Date de 1ère utilisation	01-06-2017

Tableau 3 : Mise en œuvre de la vérification de méthode

3.4 Maitrise des risques

La maitrise des risques a été réalisée selon la méthode des 5M et la méthode AMDEC. Cette analyse a été représenté par le diagramme d'Ishikawa. Cette maitrise des risques a été détaillé pour les étapes du pré-analytiques et analytiques dans (Figure 3, Tableau 4)

Figure 3 : Analyse des risques selon le diagramme d'Ishikawa

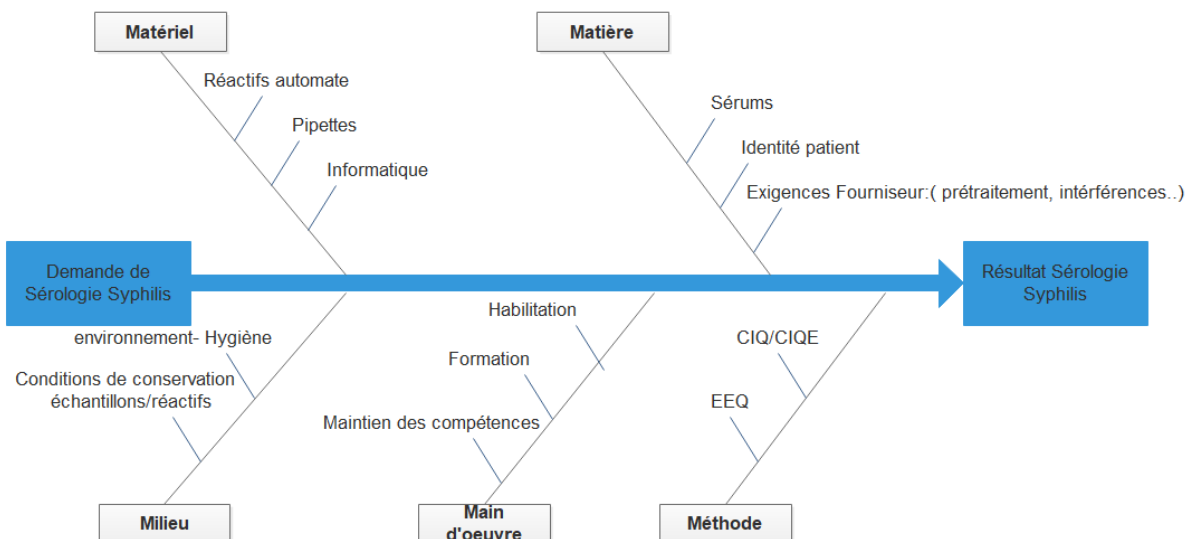


Tableau 4 : Maitrise des risques pour l'analyse Sérologie Syphilis

MAITRISE DES RISQUES Consensus GH F Fréquence sur 5 : 1 très improbable, 2 très peu probable, 3 peu probable, 4 possible/probable, 5 très probable/certain G Gravité sur 5 :1 mineure, 2 significative,3 majeure, 4 critique, 5 catastrophique Criticité F x G sur 25 : 0 à <8 risque acceptable, ≥ 8 à < 16 risque acceptable sous contrôle, ≥ 16 à 25 risque inacceptable						
5M	Points critiques Risques identifiés	Echelle de criticité FXG	Eléments à maîtriser	Moyens de maîtrise / Documents avec les références du SMQ du laboratoire		
Sous processus Pré analytique	Matière (échantillons)	Identité incomplète Absence d'identité	4 x 5	Formation et information du personnel	Manuel prélèvement PS-HUPS-SMQ-QUAL-DE-004 Réception des examens PS-HUPS-PRE-PRE-PG-001 Réception et traitement des échantillons Bactériologie PS-B-BAC-PRE-PRE-PG-001	
		Préparation du patient	4 X 3	Information des préleveurs Respect des consignes	Manuel prélèvement PS-HUPS-SMQ-QUAL-DE-004 Feuille de prescription PS-B-BACT-PRE-PRE-DE-001	
		Type de contenants	5 x 3	Information des préleveurs Respect des consignes Contrôle de l'échantillon à réception	Répertoire des examens PS-HUPS-PRE-PRE-DE-006 Gestion des non conformités pré analytiques en Bactériologie PS-B-BACT-PRE-PRE-PG-001	
		Nature et volume de l'échantillon	3X 3	Information des préleveurs Contrôle de l'échantillon à réception	Feuille de prescription Répertoire des examens Réception enregistrement examens PS-HUPS-PRE-PRE-PG-001 Gestion des non conformités pré analytiques en Bactériologie PS-B-BACT-PRE-PRE-PG-001	
		Délai et température avant traitement analytique	3 X 3	Notification de l'heure de prélèvement sur les feuilles de prescription Respect des consignes Gestion logistique (navettes, enceintes de transport) Vérification à réception	Manuel prélèvement PS-HUPS-SMQ-QUAL-DE-004 Réception et traitement des échantillons Bactériologie PS-B-BAC-PRE-PRE-PG-001 Fiches techniques Fournisseurs	
Sous processus Analytique	Matière (échantillons)	Prétraitement : centrifugation, ...	3 X 3	Conditions de centrifugation Conditions de dilution Formation du personnel	Critères de centrifugation <i>PS-B-BIO-PRE-PRE-DE-001</i> Fiches techniques fournisseur Qualification du personnel Maintien des compétences	
		Interférences	5 X 3	Formation des préleveurs Formation à la validation technique	Règles d'expertise dépendent de l'aspect de l'échantillon (hémolyse, ictère, lactescence) Rejet de la demande si indice hémolyse > 300 <i>PS-B-BIO-ANA-PLUS-DE-005</i> Fiches techniques fournisseur Qualification du personnel Maintien des compétences	
	Milieu	Conditions de conservation des échantillons (t°, ...)	2 x 3	=-Conditions conservation avant analyse -Conditions de conservation court et moyen terme (module AOB du C8100 et chambre froide P501) -conservation aliquots et tubes primaires positifs	Réception et traitement des échantillons Bactériologie PS-B-BAC-PRE-PRE-PG-001 Prélèvement bouché, température maîtrisée puis 5 ± 3 °C <i>PS-B-BIO-POS-PLUS-MO-002</i> Enregistrements métrologiques Répertoire des examens Conservation des échantillons en Bactériologie	

		Conditions de conservation et d'utilisation des réactifs (t°, ...)	2 x 3	Conservation des réactifs avant chargement sur automate	Enregistrements métrologiques Logiciel SIRIUS : PS-HUPS-MET-METRO-MO-006
		Exigences environnementales pour le matériel ou l'opérateur	3 x 3	Conditions environnementales (bruit, luminosité, température)	Manuel d'utilisation fournisseur : alarme bloquante automate 32°C Enregistrements métrologiques
Matériel (équipements)		Qualité de l'eau	2 x 3	Mesure de la résistivité	Enregistrements qualité de l'eau des osmoseurs
		Surveillance des dérives	4 x 2	Planning des maintenances	Enregistrements des maintenances
				Contrôle de la qualité analytique	Gestion des contrôles de qualité PS-HUPS-ANA-QUAL-PG-002 PS-B-BIO-CQ-BURG-PG-001 PS-B-BIO-ANA-BURG-PG-003 PS-B-BAC-SMQ-QUAL-PG-001
		Contamination	3 x 2	Respect des conditions opératoires du fournisseur Suivi des alertes de réactovigilance	Fiches techniques fournisseur Dossier de vérification / validation de méthodes PS-HUPS-ANA-QUAL-PG-001
		Informatique embarquée	3 x 4	Paramétrage, connexions, archivage des données	Sauvegarde paramétrage Sauvegarde données patient Enregistrements des jeux d'essai
Matériel (réactifs)		Conservation et conditions d'utilisation	2 X 3	Métrologie des enceintes	Enregistrements métrologiques
				Gestion des lots de réactifs	Fiches fournisseur
		Gestion des stocks	4 X 2	Gestion des stocks	Procédure de gestion des stocks
				Acceptation à réception des réactifs	Suivi de commande sur résultats "paramètre-test" PS-B-BIO-REA-ACHA-PG-001
		Reconstitution des réactifs, étalons, contrôles	2 x 4	Métrologie des pipettes	Traçabilité métrologique
Formation du personnel Respect du mode opératoire de reconstitution				Instructions de reconstitution Fiches techniques fournisseur Qualification du personnel Maintien des compétences	
Méthode		Limites de la méthode (détection, quantification, linéarité, interférences, ...)	2 x 2	Limite de détection, limite de quantification, linéarité, interférences, ...	Fiches techniques fournisseur Dossier de vérification / validation de méthodes PS-HUPS-ANA-QUAL-PG-001
				Sensibilité, spécificité	
		Causes d'incertitude de mesure	3 X 1	Calcul des incertitudes de mesure	Non applicable
Main d'œuvre (Personnel)		Compétence et maintien de compétence du personnel	2 X 3	Formation et évaluation des compétences du personnel, plan de formation	Qualification du personnel PS-HUPS-PER-PLUS-PG-002 Enregistrements des compétences du personnel
				Disponibilité du personnel pour assurer le respect de la procédure	Planning de présence du personnel

3.5 Identification des performances à évaluer :

Pour réaliser les validations de méthode, nous avons utilisé Les documents supports de notre LBM : la procédure générale de vérification des méthodes analytiques, la procédure de gestion de la portée flexible, et les documents COFRAC : le SH Form 43 et le SH GTA 04 et 14. Une vérification bibliographique et/ou une évaluation des paramètres sur site a été faite pour les 2 lignes de la chaîne Roche. (Tableau 5) (4)

Paramètres à évaluer	Bibliographie + Vérification sur site
Fidélité	Bibliographie + Vérification sur site
Justesse/Exactitude	Vérification sur site
Incertitudes/Facteurs de variabilité	Maîtrise des facteurs de variabilité
Comparaison	Vérification sur site
Interférences	Bibliographie
Contamination	Bibliographie + Vérification sur site
Robustesse	Bibliographie
Stabilité des réactifs	Bibliographie
Intervalle de référence	Bibliographie
Limite de détection	Bibliographie
Spécificité/Sensibilité analytique	Bibliographie

Tableau 5 : Performances à évaluer pour la vérification de méthode du dosage Syphilis sur Cobas C8000

3.5.1 Vérification Bibliographique

3.5.1.1 Fidélité

La précision a été déterminée par le fournisseur à l'aide de réactifs Syphilis, d'échantillons et de contrôles, selon un protocole (EP5-A2) du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Chaque échantillon a été dosé en double dans 2 séries par jour pendant 21 jours (n = 84). Six échantillons dont quatre panels plasmatiques et les deux contrôles Syphilis TP ont été analysés en double réplique, deux fois par jour, pendant vingt jours (n=80 pour chaque échantillon), à l'aide de trois lots de réactifs. Malgré les résultats, le fournisseur n'a recommandé aucune limite de Fidélité intermédiaire.

3.5.1.2 Intervalle de mesure

Dans ce test qualitatif il n'y a pas de limite de détection, cependant la notice fournisseur précise " Un résultat négatif n'exclut pas complètement la présence d'une infection par la syphilis. Les échantillons de sérum et de plasma prélevés dans la phase précoce (pré-séroconversion) ou tardive de l'infection peuvent occasionnellement donner des résultats négatifs." Ce risque est le même que pour toutes les sérologies infectieuses si le prélèvement est fait dans la fenêtre sérologique.

3.5.1.3 Spécificité

Le fournisseur a réalisé une étude sur 8079 échantillons (diagnostic de routine et dépistage de sang) provenant d'Europe et d'Asie avec le test Syphilis. 14 échantillons ont été trouvés positifs pour les anticorps anti-syphilis (confirmés par FTA-Abs et d'autres tests anti-syphilis), 8063 échantillons ont été trouvés négatifs et 10 échantillons ont été trouvés faussement positifs répétables avec le test Syphilis (négatif par FTA-Abs et d'autres tests anti-syphilis). La spécificité résultant de l'étude était de 99.88 %. La limite inférieure de l'intervalle de confiance de 95 % était de 99.77 %.

3.5.1.4 Sensibilité

Le fournisseur a réalisé une étude sur 924 échantillons de patients suspectés de syphilis (diagnostic de routine et dépistage de sang) provenant d'Europe et d'Asie avec le test Syphilis. Quatre autres échantillons ont été exclus en raison d'erreurs probables de manipulation avec d'autres échantillons de la paillasse. 922 échantillons ont été trouvés positifs pour les anticorps anti-syphilis (définis cliniquement ou confirmés par FTA-Abs) et d'autres tests anti-syphilis). Deux échantillons ont été trouvés douteux. Au total, 922 échantillons ont été trouvés positifs répétables avec le test Syphilis. Les deux échantillons douteux ont été trouvés non réactifs avec le test Syphilis. La sensibilité pour les échantillons confirmés positifs est de 100 %. La limite inférieure de l'intervalle de confiance de 95 % était de 99.60 %

3.5.1.5 Stabilité des réactifs

Le fournisseur indique que le rack pack de réactifs est stable jusqu'à la date de péremption entre 2 et 8 °C, 56 jours après ouverture entre 2 et 8 °C et 28 jours sur l'analyseur.

Les calibrateurs lyophilisés sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée, les calibrateurs reconstitués sont à usage unique. Les pratiques au laboratoire respectent ces recommandations.

3.5.1.6 Interférences

Il est recommandé de ne pas utiliser d'échantillons, présentant une très forte : hémolyse (> 0.310 mmol/L ou > 0.5 g/dL), lipémie (>2000 mg/dL), sérumalbumine (>10 g/Dl), IgG (>32 g/L), IgM (> 10 g/L), IgA humaines (>2.8 g/dl) et la biotine (>246 nmol/L). Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement d'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.

Notre laboratoire suit les recommandations des référentiels afin de maîtriser au mieux les risques d'erreur de résultats liés à ces interférences, ceci a été fait en paramétrant les indices d'hémolyse, d'ictère à partir desquels un résultat ne peut pas être rendu.

Les échantillons avant analyse doivent être conservés au maximum 24h à température ambiante ou 7 jours entre 2 et 8°C. Le laboratoire respecte ces recommandations fournisseurs car les échantillons sont soit analysés le jour même ou bien sont conservés entre 2 et 8°C (y compris en période de garde).

3.5.2. Evaluation des performances et interprétation

3.5.2.1 Répétabilité

La répétabilité a été évaluée à partir des deux niveaux du CIQ (positif et négatif). Ces échantillons ont été passés 30 fois de suite dans la même série sur chaque ligne. Le CV limite retenu par le laboratoire est de 10% (en se basant sur l'analyse du CV des autres paramètres réalisés sur les modules e des C8000). Les CV retrouvés pour les 2 lignes sont très faibles et respectent donc les performances attendues. (Tableau 6)

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
CIQ Positif (L 1)	30	4.433	0.032	0.73	NA	10%	Conforme
CIQ Négatif (L1)	30	0.071	0.001	1.15	NA	10%	Conforme
CIQ Positif (L2)	30	4.530	0.047	1.04	NA	10%	Conforme
CIQ Négatif (L 2)	30	0.083	0.001	1.50	NA	10%	Conforme

Tableau 6 : Essai de répétabilité obtenu pour les deux modules du Cobas C8000

3.5.2.2 Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire a été évaluée en passant les deux niveaux de CIQ une fois par jour pendant 30 jours au fur et à mesure de l'utilisation des tests en routine pour les 2 lignes. L'analyse des

résultats a trouvé un CV de reproductibilité pour les CQI négatif à 5.08 et 9.8% et un CV de reproductibilité pour les CQI positif à 4.17 et 4.8% pour les lignes 1 et 2. Notre laboratoire a retenu un CV de 15%, ces CV sont en accord avec les performances attendues.

Echantillons	Nombre de valeurs (N)	Moyenne	Ecart-type	CV (%)	CV (%) fournisseur	CV (%) retenu par le laboratoire	Conclusion
CIQ Positif (L1)	30	4.548	0.189	4.17	NA	15%	Conforme
CIQ Négatif (L 1)	30	0.077	0.004	5.08	NA	15%	Conforme
CIQ Positif (L2)	30	5.294	0.254	4.80	NA	15%	Conforme
CIQ Négatif (L2)	30	0.092	0.009	9.8	NA	15%	Conforme

Tableau 7 : Essai de reproductibilité obtenu pour les deux modules du Cobas C8000

3.5.2.3. Justesse

Le laboratoire participe depuis la mise en place de la méthode à un programme CIQ/CIL. Cette approche est suivie mensuellement, et les performances obtenues depuis le mois de juin 2017 sont acceptables par rapport aux groupes de pairs. (Performance acceptable lorsque l'IET est compris entre - 1.25 et 1.25 (IET=rappport du biais divisé par l'ET du groupe des pairs)).

Echantillons (CIQE Biorad)	Laboratoire	Groupe de pairs	Conclusion/Biais
Nombre de valeurs	28	579	A
Moyenne	4.12	4.44	(CVR = 0.5 IET = - 1.02 Biais = 0.32)
Ecart Type	0.139	0.315	
CV	3.4	7.1	

Tableau 8 : Résultats CQIE obtenu pour les deux modules du Cobas C8000

(A = Performance acceptable ; B=Performance acceptable à limite- Peut indiquer le besoin d'investiguer la fidélité ou la justesse du test ; C = Mauvaise performance, une action corrective requise. Notes L'IET est une estimation statistique du biais du laboratoire. Le CVR est le ratio de CV mensuel laboratoire sur le CV mensuel du groupe de pairs et il estime votre fidélité.)

3.5.2.4. Exactitude

Le laboratoire est inscrit au programme d'Evaluation Externe de la Qualité (EEQ) de CTCB. Les derniers échantillons d'EEQ reçus au laboratoire ont été réanalysés sur la ligne 2, et les résultats qualitatifs obtenus ont été comparable avec ceux déjà rendus en méthode manuelle et sont conformes aux résultats attendus.

3.5.2.5 Contamination inter-échantillon

Afin d'évaluer les éventuelles contaminations inter-échantillons, trois échantillons négatifs ont été passés entre des échantillons positifs lors de la comparaison de méthode manuelle et automatisée. Aucune contamination inter-échantillons n'a été mise en évidence. De plus, le matériel utilisé par l'automate est à usage unique et les procédures de rinçage recommandées par le fabricant sont respectées.

3.5.2.6 Comparaison de méthode

Une comparaison avec l'ancienne méthode a été réalisée ainsi qu'une comparaison entre les deux modules du Cobas C8000.

Pour cela 65 échantillons et 3 EEQ couvrant de façon homogène le domaine physiopathologique analysés récemment par l'ancienne méthode ont été analysés avec le nouveau kit sur la ligne2 du C8000. En parallèle un TPHA et un VDRL manuels ont été réalisés pour ces échantillons. Les résultats ont été analysés par une étude des discordances pour la comparaison avec l'ancienne méthode utilisée, (Tableau 9)

Une droite de régression linéaire a été réalisée pour comparer les deux modules du Cobas (automates en miroir), pour cela 24 échantillons ont été testés sur la ligne 2 puis sur la ligne 1. Celle-ci a montré une très bonne corrélation entre les deux modules avec un coefficient de corrélation linéaire proche de 1. (Figure 4).

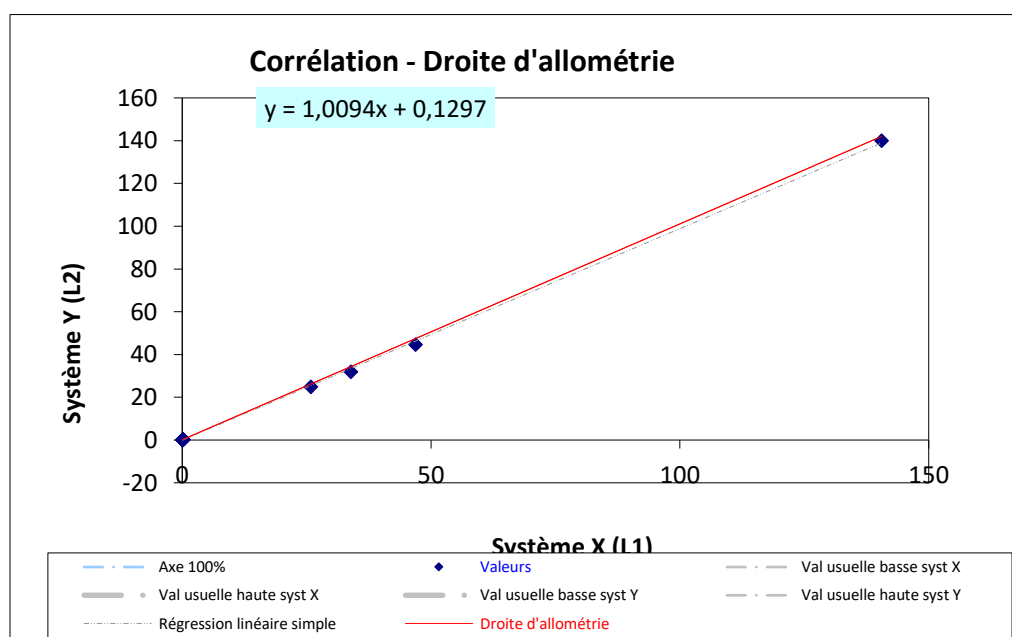


Figure 4 : Droite de corrélation de la comparaison des 2 lignes du Cobas C8000

Tableau 9 : Comparaison méthode manuelle et automatisée

Numéro échantillon	TPHA qualitatif	TPHA quantitatif	Test Syphilis brut	Test Syphilis interprété	Comparaison manuel/automatisé (Ligne 2)
1	POSITIF	10240	207,5	POSITIF	CONCORDANT
2	NEGATIF		0,075	NEGATIF	CONCORDANT
3	NEGATIF		0,073	NEGATIF	CONCORDANT
4	NEGATIF		0,074	NEGATIF	CONCORDANT
5	NEGATIF		0,081	NEGATIF	CONCORDANT
6	NEGATIF		0,079	NEGATIF	CONCORDANT
7	NEGATIF		0,08	NEGATIF	CONCORDANT
8	POSITIF	20480	323,7	POSITIF	CONCORDANT
9	NEGATIF		0,084	NEGATIF	CONCORDANT
10	POSITIF	1280	134,1	POSITIF	CONCORDANT
11	NEGATIF		0,076	NEGATIF	CONCORDANT
12	POSITIF	10240	311	POSITIF	CONCORDANT
13	NEGATIF		0,085	NEGATIF	CONCORDANT
14	NEGATIF		0,08	NEGATIF	CONCORDANT
15	NEGATIF		0,077	NEGATIF	CONCORDANT
16	NEGATIF		0,078	NEGATIF	CONCORDANT
17	NEGATIF		0,082	NEGATIF	CONCORDANT
18	NEGATIF		0,076	NEGATIF	CONCORDANT
19	NEGATIF		0,076	NEGATIF	CONCORDANT
20	NEGATIF		0,08	NEGATIF	CONCORDANT
21	POSITIF	5120	183,2	POSITIF	CONCORDANT
22	POSITIF	5120	70,56	POSITIF	CONCORDANT
23	POSITIF	20480	233,2	POSITIF	CONCORDANT
24	POSITIF	640	121	POSITIF	CONCORDANT
25	POSITIF	80	144,9	POSITIF	CONCORDANT
26	POSITIF	320	223,3	POSITIF	CONCORDANT
27	POSITIF	5120	250,9	POSITIF	CONCORDANT
28	POSITIF	160	52,15	POSITIF	CONCORDANT
29	POSITIF	80	70,39	POSITIF	CONCORDANT
30	POSITIF	10240	270	POSITIF	CONCORDANT
31	POSITIF	640	13,91	POSITIF	CONCORDANT
32	POSITIF	160	112,6	POSITIF	CONCORDANT
33	POSITIF	5120	286,9	POSITIF	CONCORDANT
34	POSITIF	1280	19,57	POSITIF	CONCORDANT
35	POSITIF	20480	211,9	POSITIF	CONCORDANT
36	POSITIF	640	250,4	POSITIF	CONCORDANT
37	POSITIF	20480	284,2	POSITIF	CONCORDANT
38	POSITIF	320	31,11	POSITIF	CONCORDANT
39	POSITIF	5120	186	POSITIF	CONCORDANT
40	POSITIF	80	32,93	POSITIF	CONCORDANT

41	POSITIF	80	188,8	POSITIF	CONCORDANT
42	POSITIF	20480	308,7	POSITIF	CONCORDANT
43	POSITIF	10240	44,68	POSITIF	CONCORDANT
44	POSITIF	10240	228,1	POSITIF	CONCORDANT
45	POSITIF	5120	285,1	POSITIF	CONCORDANT
46	POSITIF	5120	370,9	POSITIF	CONCORDANT
47	POSITIF	10240	241,8	POSITIF	CONCORDANT
48	POSITIF	1280	184	POSITIF	CONCORDANT
49	POSITIF	2560	123,8	POSITIF	CONCORDANT
50	POSITIF	10240	221,5	POSITIF	CONCORDANT
51	POSITIF	10240	293,5	POSITIF	CONCORDANT
52	POSITIF	640	134,3	POSITIF	CONCORDANT
53	POSITIF	320	29,82	POSITIF	CONCORDANT
54	POSITIF	160	12,7	POSITIF	CONCORDANT
55	POSITIF	40	24,51	POSITIF	CONCORDANT
56	POSITIF	80	60,34	POSITIF	CONCORDANT
57	POSITIF	160	27,7	POSITIF	CONCORDANT
58	POSITIF	640	84,83	POSITIF	CONCORDANT
59	POSITIF	320	32,13	POSITIF	CONCORDANT
60	POSITIF	1280	134,1	POSITIF	CONCORDANT
61	POSITIF	2560	193,6	POSITIF	CONCORDANT
62	POSITIF	20480	212,6	POSITIF	CONCORDANT
63	POSITIF	1280	307,5	POSITIF	CONCORDANT
64	POSITIF	20480	257,7	POSITIF	CONCORDANT
65	POSITIF	1280	249,3	POSITIF	CONCORDANT
EEQ SYPHILIS ABP SYP 16/2	POSITIF	2560	24	POSITIF	CONCORDANT
EEQ SYPHILIS ABP SYP 16/1	POSITIF	320	23,64	POSITIF	CONCORDANT
EEQ ANSM 15BAC2 S2	POSITIF	320	51,05	POSITIF	CONCORDANT

Nous pouvons conclure qu'il n'y a pas de différences entre les 2 modules et des 2 lignes du Cobas comparées car : il n'y a pas de points en dehors de limites, la pente de la droite de régression est très proche de 1 et l'ordonnée à l'origine de la droite de régression est proche de 0.

4. Conclusion et décision sur la validation opérationnelle de la technique

La vérification des performances sur le Cobas C8000 du kit Syphilis TP (Roche) n'a pas montré de problème, les résultats obtenus sont satisfaisants par rapport aux objectifs attendus. La comparaison de méthodes n'a révélé aucune discordance.

En conclusion la technique a été validée et est utilisée depuis le 01 juin 2017 au laboratoire.

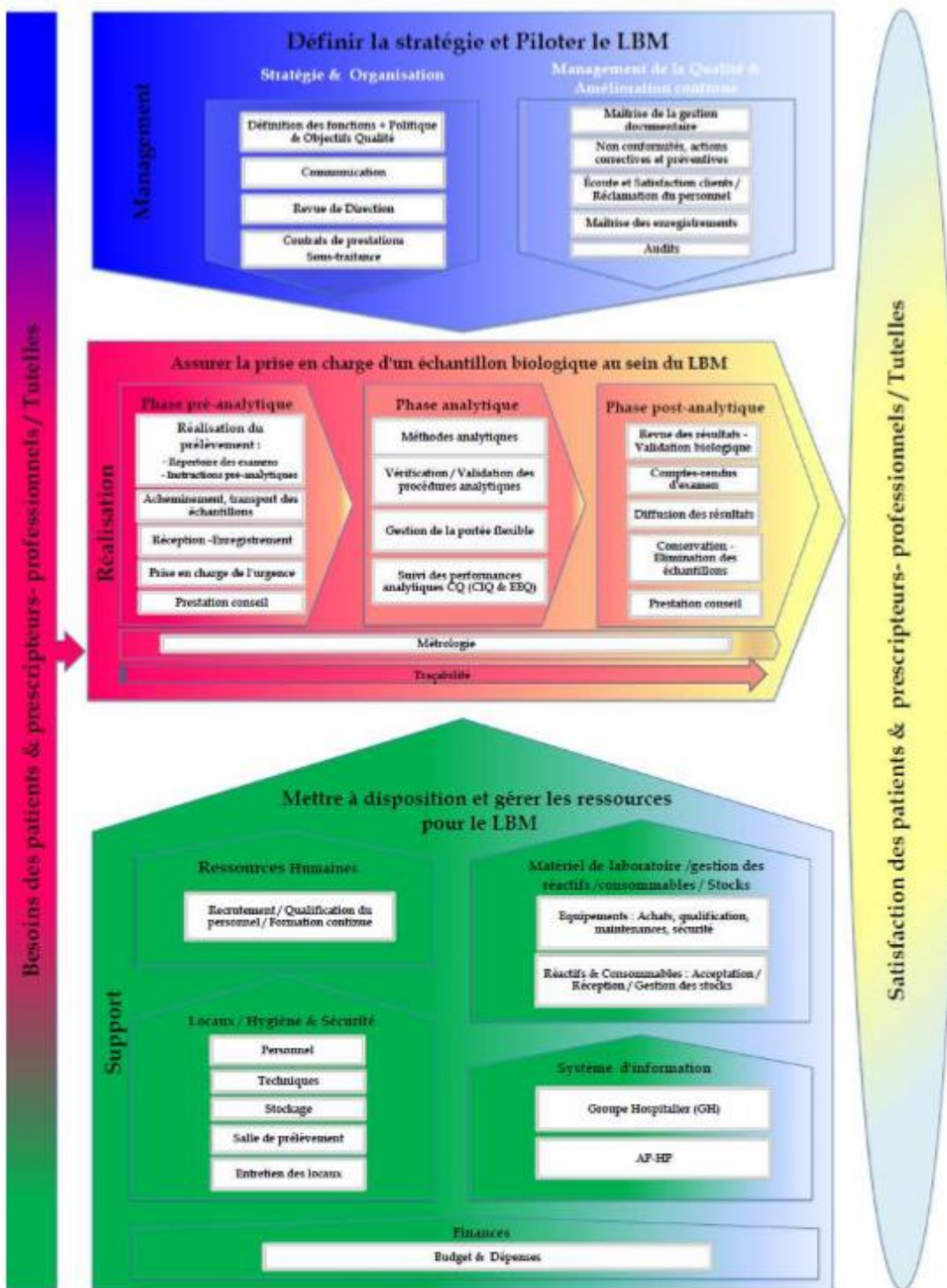
BIBLIOGRAPHIE

1. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.
2. LOI n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale. 2013-442 mai 30, 2013.
3. Norme NF EN ISO 15189 Déc 2012.
4. LAB GTA 04. Guide de validation des méthodes en biologie médicale.
5. LAB GTA 14. Guide d'évaluation des incertitudes de mesure des analyses de biologie médicale.
6. SH REF 02. Recueil des exigences spécifiques pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale.
7. SH REF 08. Expression et évaluation des portées d'accréditations COFRAC, 2010.
8. ROCHE® Fiche technique Syphilis TP ms_06923348190V4.0
9. Haute Autorité de Santé. Modification de la NABM pour les actes de recherche du *Treponema pallidum*. Argumentaire. HAS ; mai 2015.
10. Haute Autorité de Santé. Evaluation a priori du dépistage de la syphilis en France. Argumentaire. HAS ; 2007.

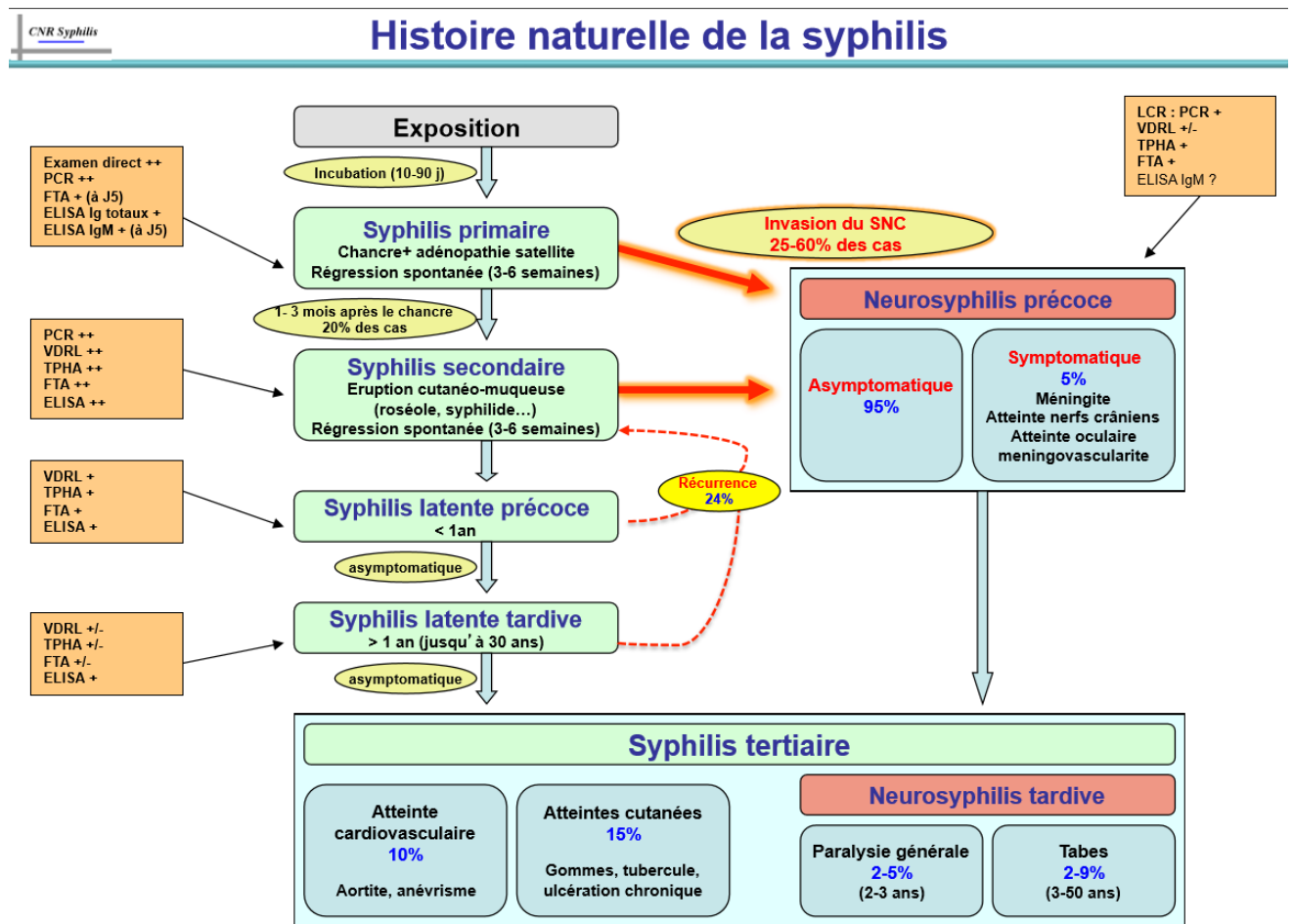
ANNEXES



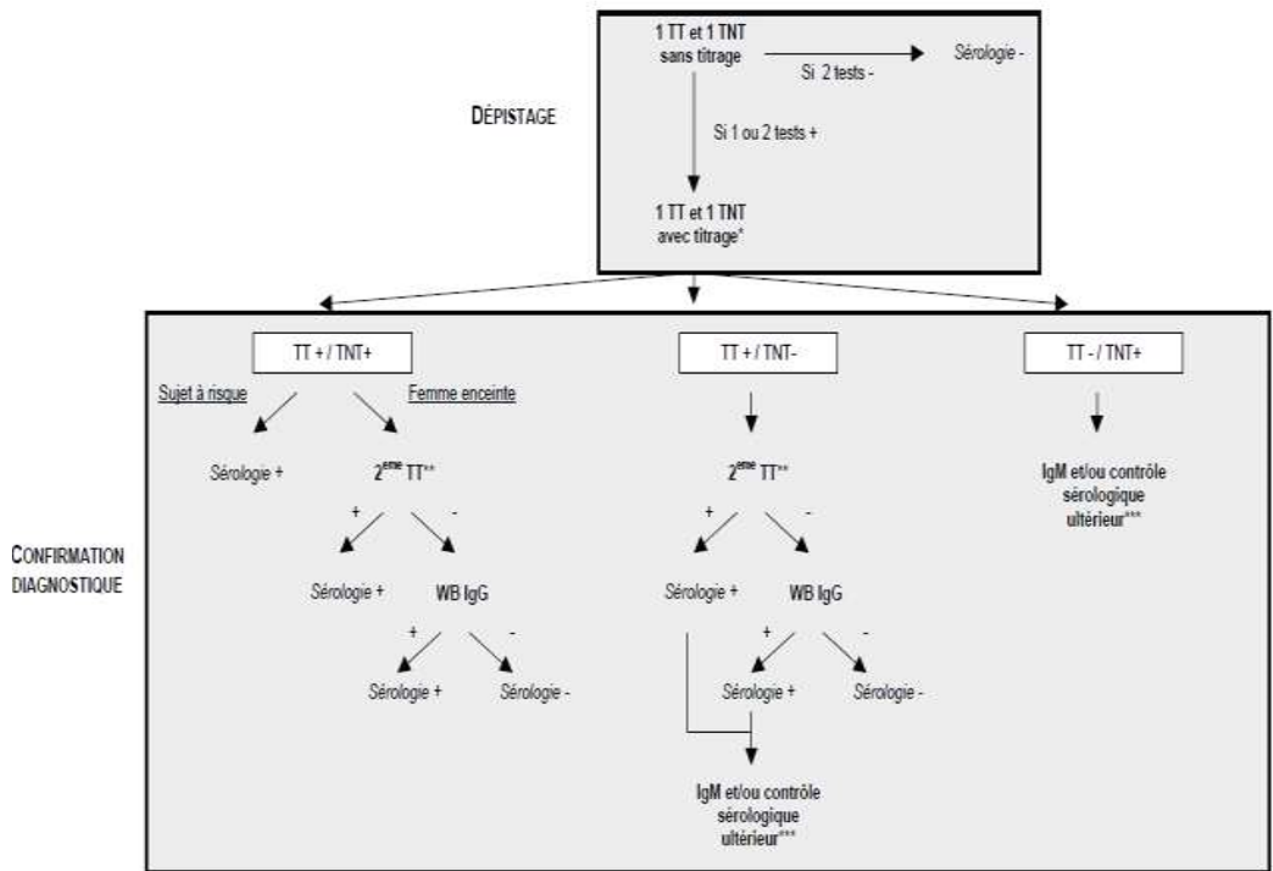
Cartographie des processus du Laboratoire de Biologie Médicale (LBM)



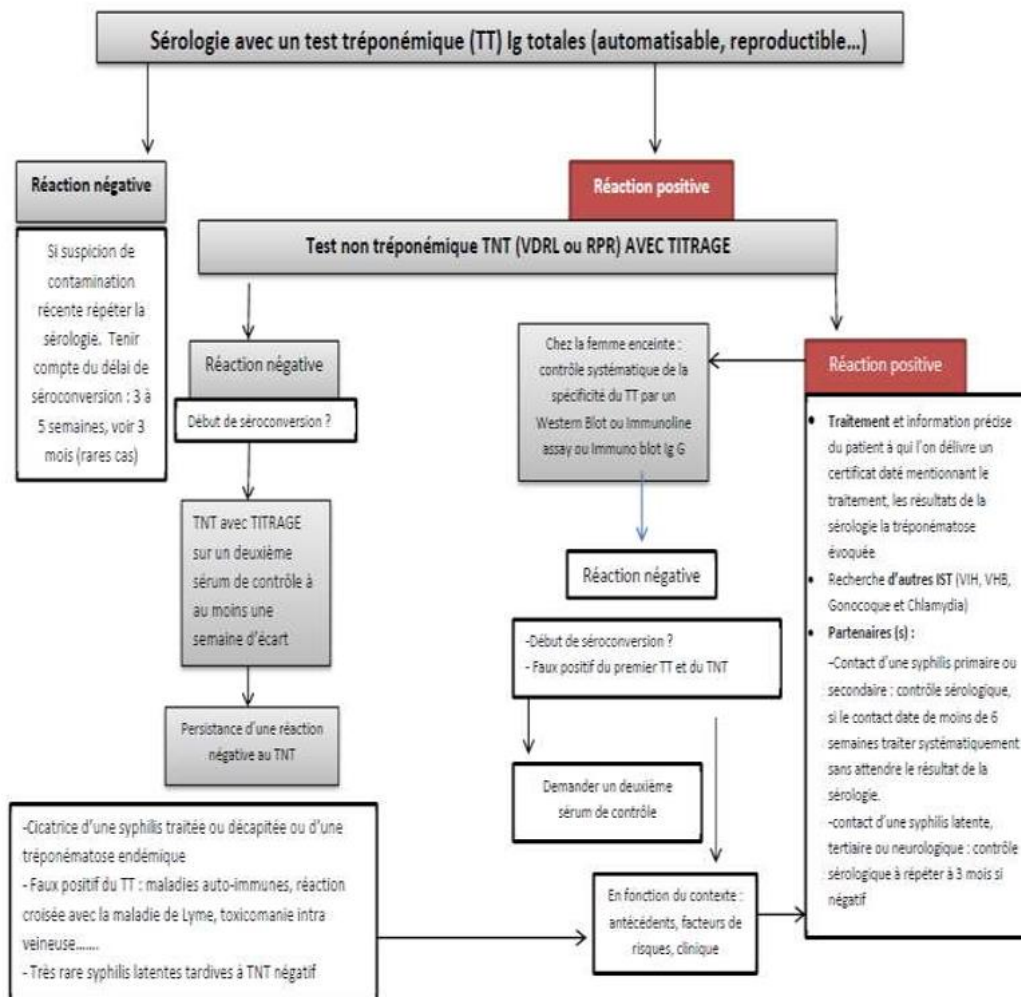
Annexe 2 : Histoire naturelle de la Syphilis (CNR Centre national de référence de la Syphilis)



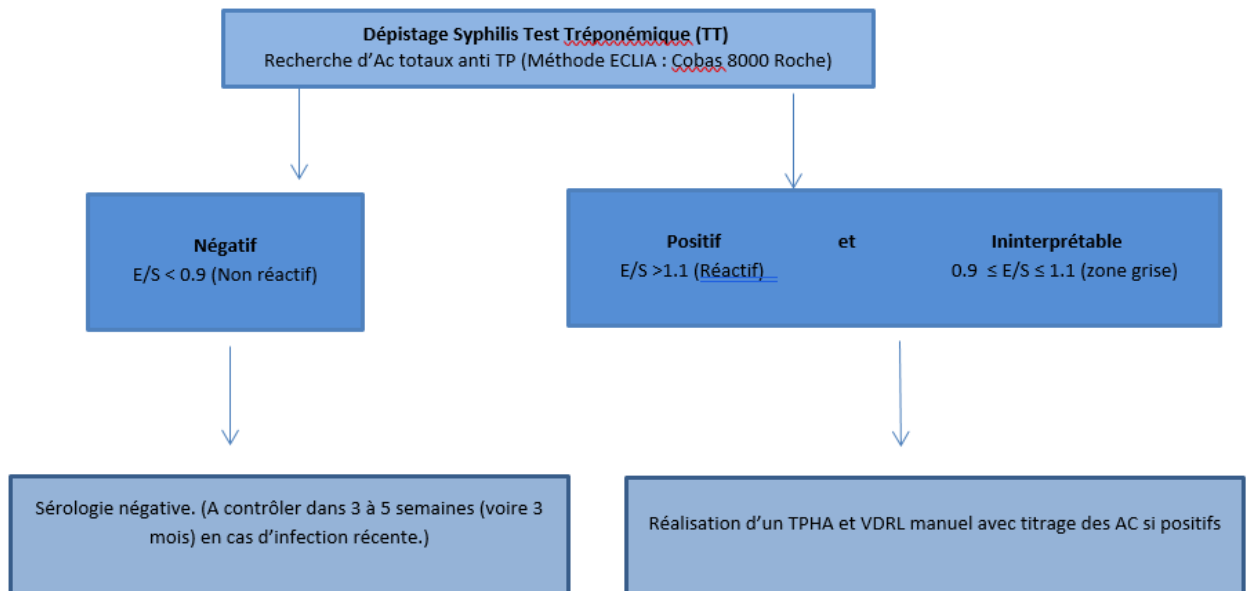
Annexe 3 : Algorithmes de diagnostic et de dépistage en vigueur en France



Annexe 4 : Algorithme de diagnostic et de dépistage proposé par l'UNCAM



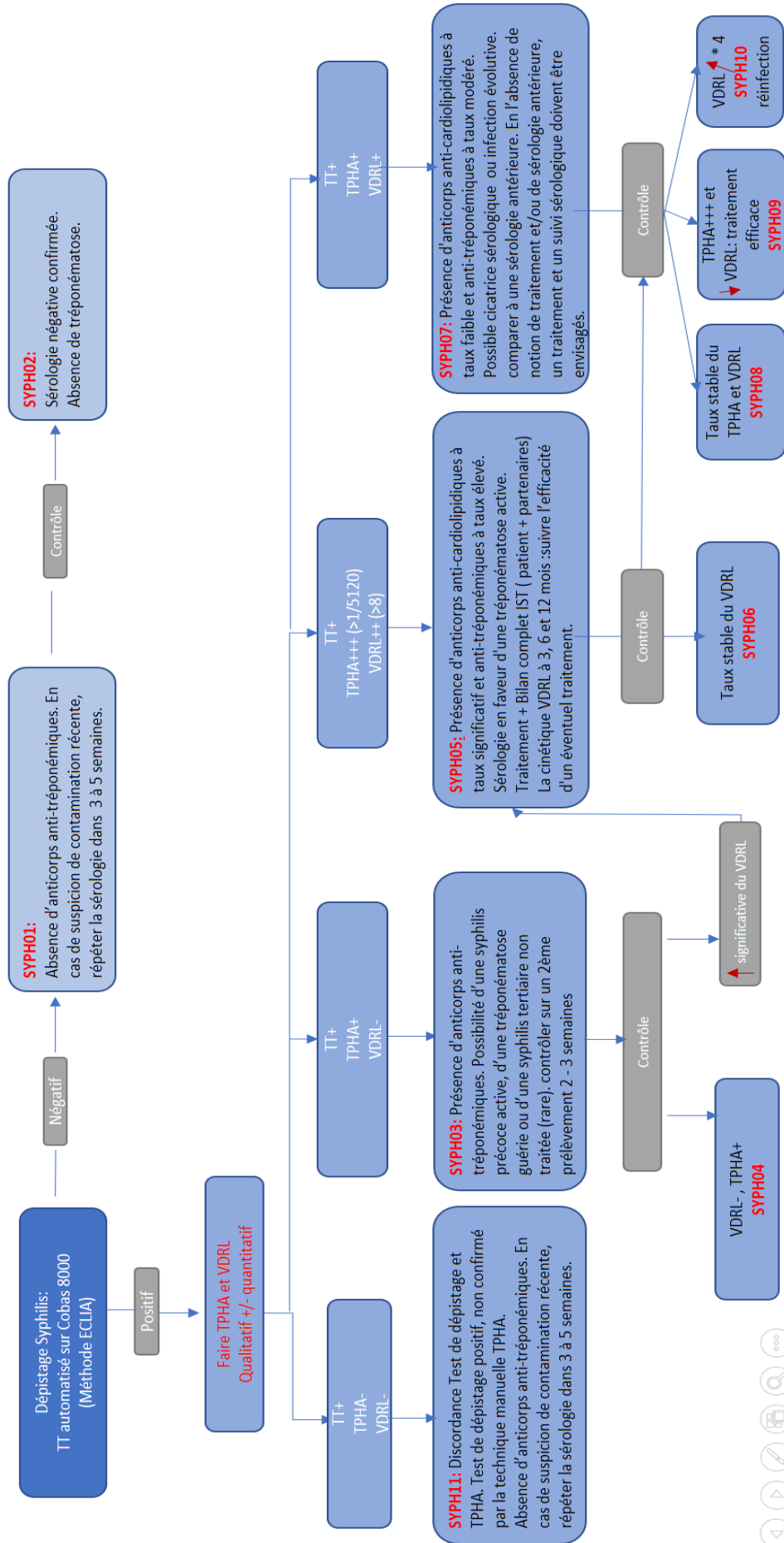
Annexe 5 : Algorithme de dépistage et d'interprétation des résultats du dosage Syphilis TT sur le Cobas 8000 CHU Bicêtre



Stratégie dépistage sérologie Syphilis à Bicêtre

Algorithme Sérologie Syphilis à Bicêtre :

Remplacement de l'association systématique d'un TT et d'un TNT, par un seul test tréponémique **Syphilis**® pour les dépistages de syphilis. Cet algorithme décrit les situations les plus fréquentes. Cas particulier : Femme enceinte: envoi au CNR Syphilis pour contrôle systématique de la spécificité du TT par un WB IgG



Annexe 7 : Processus de vérification de méthode de la sérologie Syphilis, SH Form



BCT-BACTERIOLOGIE
 Laboratoire de Bactériologie
 Hôpital Bicêtre 78 rue du Général Leclerc
 94275 LE KREMLIN BICETRE
 Tél : 01 45 21 70 80
 Fax : 01 45 21 71 90

FICHE TYPE DE VERIFICATION (PORTEE A) / VALIDATION (PORTEE B) D'UNE METHODE DE BIOLOGIE MEDICALE

EXAMEN DE BIOLOGIE MEDICALE

Identification du paramètre (comme identifié dans la liste détaillée des examens) :
 Sérologie syphilis

Processus complexe (nombre de sous-processus : 6)

DESCRIPTION DU PROCESSUS

<p>1. VM-PSC-AQUAL-17-6 / TPHA qualitatif</p>	<p>Eléments à vérifier</p>	<ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input type="checkbox"/> 5. Exactitude <input checked="" type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input checked="" type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input checked="" type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences <input type="checkbox"/> 11.1. Contamination inter-échantillon <input type="checkbox"/> 11.2. Contamination inter-réactif <input type="checkbox"/> 12.1. Robustesse <input type="checkbox"/> 12.2. Stabilité <input type="checkbox"/> 13. Intervalles de référence <input type="checkbox"/> 14. Discordances
<p>2. VM-PSC-AQUAL-17-7 / VDRL qualitatif</p>	<p>Eléments à vérifier</p>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> 1. Répétabilité <input type="checkbox"/> 2. Fidélité intermédiaire <input checked="" type="checkbox"/> 3. Variabilité inter-opérateurs <input type="checkbox"/> 4. Justesse <input type="checkbox"/> 5. Exactitude <input checked="" type="checkbox"/> 6. Sensibilité et spécificité analytique <input type="checkbox"/> 7. Incertitudes <input type="checkbox"/> 8. Etendue de mesure <input type="checkbox"/> 9. Comparaison de méthodes <input checked="" type="checkbox"/> 10. Interférences <input checked="" type="checkbox"/> 11.1. Contamination inter-échantillon <input type="checkbox"/> 11.2. Contamination inter-réactif <input type="checkbox"/> 12.1. Robustesse <input type="checkbox"/> 12.2. Stabilité <input type="checkbox"/> 13. Intervalles de référence <input type="checkbox"/> 14. Discordances

3. VM-PSC-AQUANT-17-1 / TPHA quantitatif

Eléments à vérifier

- 1. Répétabilité
- 2. Fidélité intermédiaire
- 3. Variabilité inter-opérateurs
- 4. Justesse
- 5. Exactitude
- 6. Sensibilité et spécificité analytique
- 7. Incertitudes
- 8. Etendue de mesure
- 9. Comparaison de méthodes
- 10. Interférences
- 11.1. Contamination inter-échantillon
- 11.2. Contamination inter-réactif
- 12.1. Robustesse
- 12.2. Stabilité
- 13. Intervalles de référence
- 14. Discordances

4. VM-PSC-AQUAL-17-8 / VDRL quantitatif

Eléments à vérifier

- 1. Répétabilité
- 2. Fidélité intermédiaire
- 3. Variabilité inter-opérateurs
- 4. Justesse
- 5. Exactitude
- 6. Sensibilité et spécificité analytique
- 7. Incertitudes
- 8. Etendue de mesure
- 9. Comparaison de méthodes
- 10. Interférences
- 11.1. Contamination inter-échantillon
- 11.2. Contamination inter-réactif
- 12.1. Robustesse
- 12.2. Stabilité
- 13. Intervalles de référence
- 14. Discordances

5. VM-PSC-AQUAL-17-9 / Recherche d'anticorps anti-tréponémiques

Eléments à vérifier

- 1. Répétabilité
- 2. Fidélité intermédiaire
- 3. Variabilité inter-opérateurs
- 4. Justesse
- 5. Exactitude
- 6. Sensibilité et spécificité analytique
- 7. Incertitudes
- 8. Etendue de mesure
- 9. Comparaison de méthodes
- 10. Interférences
- 11.1. Contamination inter-échantillon
- 11.2. Contamination inter-réactif
- 12.1. Robustesse
- 12.2. Stabilité
- 13. Intervalles de référence
- 14. Discordances

6. VM-PSC-AQUAL-17-10 / Recherche
d'anticorps anti-tréponémiques

Eléments à vérifier

- 1. Répétabilité
- 2. Fidélité intermédiaire
- 3. Variabilité inter-opérateurs
- 4. Justesse
- 5. Exactitude
- 6. Sensibilité et spécificité analytique
- 7. Incertitudes
- 8. Etendue de mesure
- 9. Comparaison de méthodes
- 10. Interférences
- 11.1. Contamination inter-échantillon
- 11.2. Contamination inter-réactif
- 12.1. Robustesse
- 12.2. Stabilité
- 13. Intervalles de référence
- 14. Discordances

RESUME

La norme NF EN ISO 15189, à laquelle les laboratoires de biologie médicale ont l'obligation de s'accréditer depuis l'ordonnance du 13 juillet 2010, stipule que les procédures d'examens doivent faire l'objet d'une validation indépendante par le laboratoire avant d'être utilisées régulièrement.

Ce mémoire présente la vérification de la méthode de dosage des anticorps anti-tréponémiques sur le Cobas C8000 qui a été effectuée au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Bicêtre.

Afin de réaliser ce projet nous avons créé un groupe de travail et planifier les tâches des différents intervenants. Ce projet a été piloté grâce à un planning et à des réunions avec les équipes de Biochimie et de Bactériologie.

Le travail sur les performances de la méthode nous a permis de conclure à la conformité de la méthode utilisée dans notre laboratoire. Au terme de ce travail nous avons rédigé le SH Form 43 qui sera présenté au Cofrac lors de sa visite.

L'utilisation en routine a révélé des problèmes d'interprétation pour les résultats proches du seuil décisionnel. Ce problème a été résolu par la détermination d'une zone grise pour laquelle est réalisé un TPHA en manuel, elle sera ajustée grâce au calcul de l'incertitude de mesure avec à l'aide des prochains EEQ.

La technique utilisée répond aux spécifications attendues par le laboratoire, elle est donc apte à être utilisée. Il sera cependant important de maîtriser l'évolution des performances de la méthode par le suivi et l'analyse des contrôles qualités instaurés.